

ヌクレオシド合成に関する研究

著者	山岡 尚孝
号	35
発行年	1964
URL	http://hdl.handle.net/10097/12416

氏 名 ・ (本 籍)	やま おか なお たか 山 岡 尚 孝 (東 京 都)
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 35 号
学 位 授 与 年 月 日	昭和 40 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研 究 科 専 門 課 程	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 農芸化学専攻
学 位 論 文 題 目	ヌクレオシド合成に関する研究
論 文 審 査 委 員	教 授 (主 査) 柴 崎 一 雄 教 授 志 村 憲 助 助教授 松 田 和 雄

論 文 内 容 要 旨

ヌクレオシド化合物は食品の分野では調味料としてイノシン酸、グアニル酸等があり、生理活性物質としてビタミン B₁₂ の構成成分、抗ウイルス性物質、抗菌性物質、抗癌剤等の多くの有用化合物が知られている。この様なヌクレオシド類は現在何れも天然資源に依存しており、化学合成は実用化されていない。その理由としてはグリコシド化の収量が悪いこと及び D-リボースまたはその誘導体が得がたいことがあげられているので、ヌクレオシドを化学的に収量良く合成する方法を検討することは極めて有意義と思われる。

ヌクレオシドは糖と核酸塩基から出来ているが、この両者を縮合させる方法で比較

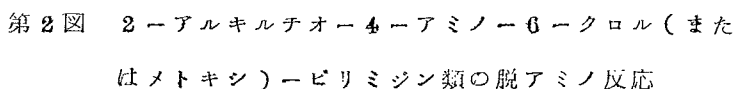
的収量がよいと云われているものでは Fischer-Helferich 法があり、これを改良した多くの方法を参考にヌクレオシド類の合成法を検討したが、いずれも収量が悪く、反応生成物も結晶状に得られなかつた。また縮合させるアシルハロゲノ糖の代りに糖の C-1, 2 無水糖, C-1, 2 不飽和糖を用いて核酸塩基との縮合を試みたが成功しなかつた。

そこで種々検討し従来使用された無極性溶媒の代りに有機極性溶媒中での反応を試み、ニトロアルカン類、シアノアルカン類、ピリジン等の極性溶剤を選び Fischer-Helferich 法による縮合反応を行なわせたと、ピリジン以外の有機溶媒ではキシロール、トルエン等の無極性有機溶剤よりも全般的に高収量を示し、生成物の着色も少ない優れた結果が得られた。

更に従来の Fischer-Helferich 法ではプリン塩基の重金属塩を調製する煩雑さがあるので、これを省略した直接プリン塩基とアシルハロゲノ糖とをハロゲン化水素受容体存在下にニトロアルカン類、シアノアルカン類等の極性不活性溶媒中で縮合反応させる直接法を発見することが出来た。しかも方法は今迄の合成法中で最も収量がよく優れたヌクレオシド合成法である。

第1章 プリン及びピリミジン塩基類の化学合成

アデノシン、イノシンの合成は非常に収量が悪いが、1-アルキルヒポキサンテンの塩化水銀塩とアシルハロゲノ糖とを縮合して収量よく N-9 グリコシドが出来、而も N-1 のアルキル基が何らかの方法で除去することが出来るならば、イノシン合成にとって非常に好都合であるので 1-メチルヒポキサンテンの合成の検討を行なつた。1-メチルヒポキサンテンは従来四段階で合成されていたが、これを二段階にし、しかも中間体、最終生成物が容易に精製出来る第 1 図に示す方法を考案した。

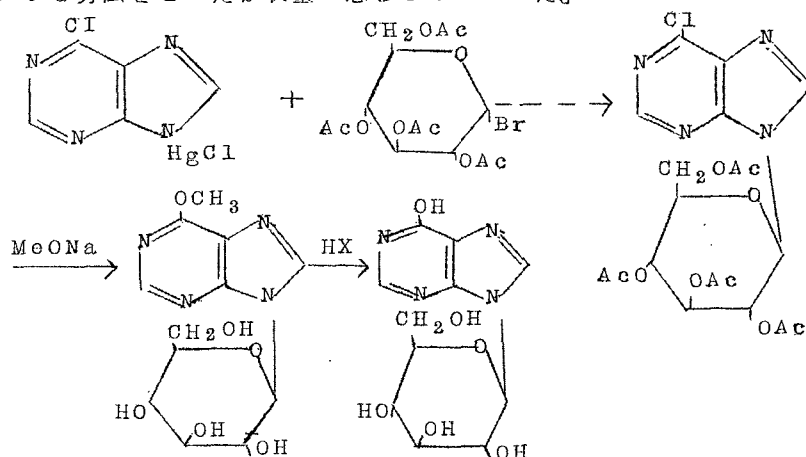


ヌクレオシド化反応で今迄検討されておらない縮合反応溶媒について検討を試みた。今迄はキシレン、トルエン、ベンゼン、エチレンクロリド、ジクロルメタン等の比較的無極性溶媒が多く用いられているだけであるので、ヌクレオシド化反応に於て全く極性のないベンゼンと略々同じ沸点の極性溶媒であるニトロメタンを用いた反応を比較したところ両者の収量に大差を生じることを認めた。これは非常に面白いことで両者ともアシルハロゲン糖は良く溶解するが、ベンゼン、トルエン等の極性のない溶媒は核酸塩基の重金属塩、その他一般の塩を全く溶解しない。しかしこれに反しニトロメタンは核酸塩基の重金属塩や生成されたハロゲン化金属塩を一部溶解する性質がある。ニトロメタンは酸の様な性質を持っておりメタン基の水素がイオン化されやすく、

またニトロ基は水素結合を起しうる等の性質からアシルハロゲン糖が加熱されて作ると考えられているオルソエステルイオンを促進安定化する傾向があると思われる。また核酸塩基の重金属塩を溶解することは今迄無極性溶媒を用いた反応では不均一反応であつたものを均一反応にしているとも考えられ、多くの点で縮合反応を促進し、収量を良くする結果をもたらしたと考えられる。

Fischer-Helfferich変法によりヒポキサンチンの塩化水銀塩とアセトブロムグルコースとを縮合させてイノシン相当物が得られるのではないかと考え実験を行なつたところ、イノシン相当物は得られず、白色粉状物としてヒポキサンチンにグルコースが二分子結合した化合物が合成され、加水分解物をペーパークロマトグラフィーにより検出するとグルコース、ヒポキサンチン、モノグルコシルヒポキサンチン、ジグルコシルヒポキサンチンのスポットが認められた。しかしこれらの化合物を分離することは非常に操作が困難で実用的立場からはさらによい方法が望ましいと考えられた。

イノシンをアデノシンを経由しないで得る収量のよい方法を検討した。まずこのような化合物でプリン塩基の重金属塩とアシルハロゲン糖との縮合で収量が比較的よいもので容易にイノシンに誘導できる可能性のある化合物として6-クロロプリンを選び、6-クロロプリンの塩化水銀塩とアセトブロムグルコースと縮合させて6-クロル-9-(2',3',4',6'-テトラ-O-アセチル-β-D-グルコピラノシル)-プリンを合成し、これを第3図に示す経路で9-β-D-グルコピラノシルヒポキサンチンにする方法をとつたが収量は思ひしくなかつた。



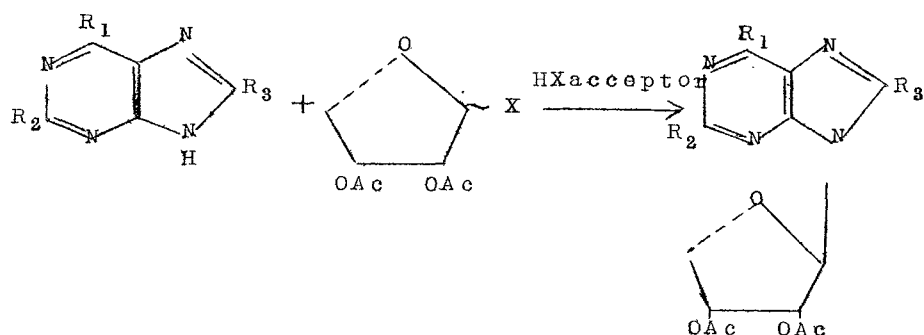
第3図 9-β-D-グルコピラノシルヒポキサンチンの合成

この様なことを 6-メトキシブリンの塩化水銀塩とアセトブロムグルコースで試みたが成功しなかつた。

アデノシンやイノシンに収量良く誘導できると思われる新しいブリンヌクレオシド類の合成を試みた。6,8-ジクロルブリンのヌクレオシドが収量よく合成されるならばその 6 位クロルをアミノ基、または水酸基に置換することによりアデノシン、イノシン等に容易に誘導できるのではないかと考え、6,8-ジクロルブリンとアセトブロムグルコースとを縮合させるため、6,8-ジクロルブリンの銀塩と塩化水銀塩の調製を行なつた所、塩化水銀塩は高濃度のアルコール水溶液に非常によく溶解し、塩を調製することが出来なかつた。この様な現象は 2,6,8-トリクロルブリンの塩化水銀塩を調製しようと試みた時にも認められ、8 位クロルが異状に N-9 位のプロトンをイオン化するためではないかと考えられる。従つて調製できたのは 6,8-ジクロルブリンの銀塩で、これとアセトブロムグルコースをキシロール中で加熱縮合させて得た淡褐色のガラス状物質をエタノールで処理し、白色針状の結晶を得ることが出来た。この 6,8-ジクロル-9- β -(2',3',4',6'-テトラ-O-アセチル- β -D-グルコピラノシル)-ブリンはアンモニア性エタノールで加熱処理することにより容易に高収量(80%)で 8-クロル-9- β -D-グルコピラノシルアデニンを得た。しかし Fischer-Helfferich 法に於ける 2,8-ジクロル-9-(2',3',4',6'-テトラ-O-アセチル- β -D-グルコピラノシル)-アデニンの合成法に準じて、8-クロルアデニンの銀塩とアセトブロムグルコースとを縮合させても 8-クロル-9- β -D-グルコピラノシルアデニンを合成することはできなかつた。これはヌクレオシド合成がいかによりブリン類の種類によつて左右されるかを示す良い例といえる。

第 3 章 ヌクレオシドの新合成法

従来多くの中間体を経て縮合させる方法があるが、直接核酸塩基とアシルハロゲン糖とを収量よく縮合させる方法を検討し、第 4 図に示すような方法を見付け出した。



第4図 ヌクレオシドの新合成経路

丁度 K^oenig—Knorr 反応がアシルハロゲン糖とアルコール性水酸基との縮合であるのに対して環状イミノ基との縮合であるので、先ず K^oenig—Knorr 形反応と同じ条件で 2, 6, 8-トリクロルプリンとアセトブロムグルコースとを縮合させると収量は非常に悪く、少量のヌクレオシドを得るにすぎなかつた。これはハロゲン化水素受容体に酸化銀、炭酸銀を用いた為、酸化銀では水が、炭酸銀では水と炭酸ガスが生じた為と、また縮合反応の温度を室温で行つた為に縮合反応が不完全であつたとも考えられるのでハロゲン化水素受容体に酸化銀を用い、脱水剤（硫酸カルシウム等）を共存させると収量は著しく向上することを明らかにした。

更にハロゲン化水素受容体にシアン化銀、シアン化水銀等を用い、反応温度をニトロメタンの沸点で行なつたところ収量は 70% 前後に上昇し、而も反応生成物も結晶化しやすく着色も少く極めて良好な結果が得られた。ヌクレオシド化反応は水が少量存在するとアシルハロゲン糖が水解をうけるのでシアン化亜鉛の様にハロゲン化水素と反応してハロゲン化亜鉛を生じるものは同時に脱水剤の性質を示すものと考えシアン化亜鉛を用いてみたが収量は減少した。重金属塩だけでなく、アルカリ金属塩でも反応は進行するものと考え、シアン化カリを用いて縮合を行なつてみたが収量はシアン化亜鉛を用いたものより良く、シアン化水銀より減少した。以上のことからこの反応に於けるハロゲン化水素受容体としては重金属の弱酸塩がのぞましく、しかもハロゲン化水素と反応して水を生じない化合物が最も好ましいことを明らかにした。

次にこの反応における反応溶媒についても検討を加えた。2, 6, 8-トリクロルプリンとアセトブロムグルコースとの縮合反応溶媒にニトロエタン、アセトニトリル、

n-ヘプタンを用いてその収量を比較検討した。ニトロエタンの沸点はキシロールやトルエンに近いが、ニトロメタンより収量が減少した。これはニトロエタンがニトロメタンより極性が小さいことに由来していると考えられる。アセトニトリルでの収量はニトロメタンよりやや低下した。これはアセトニトリルの沸点がニトロメタンより低いこと及び縮合反応を行なう前にブリン中の水分除去にあたりアセトニトリルが水との共沸混合物を作らないためエチレンジクロリドで脱水して反応を行なう等のためにニトロメタンより収量がやや減少したものと考えられる。これら極性溶媒のニトロアルカン、シアノアルカン類とは全く性質を異にするが、沸点が近似したn-ヘプタンを無極性溶媒の代表として用いてみたが、収量は非常に悪かつた。これにn-ヘプタンがブリン化合物とハロゲン化水素受容体を溶解しない為と溶媒の極性がない為と考えられる。従つて反応溶媒としてはニトロメタンが沸点、極性及び水との共沸混合物を作る事から最適である事を見出した。以上の結果を第1表に示した。

TABLE I

I		II	HX acceptor g.	Solvent (ml)	Drie-rite, g.	Reflu- Xed time, hr.	III g.	Yield, %
X	g.	g.						
Br	62	33	Ag ₂ O (4.0)	CH ₃ NO ₂ (100)	5	1	2.2	27
Br	62	38	Ag ₂ O (4.0)	CH ₃ NO ₂ (100)	---	1	1.1	14
Br	62	33	Hg(CN) ₂ (4.0)	CH ₃ NO ₂ (100)	5	2	5.0	61
Br	62	33	Hg(CN) ₂ (4.0)	n-C ₇ H ₁₆ (110)	5	2	0.2	2
Br	21	11	Hg(CN) ₂ (1.2)	CH ₃ CN (60)	3	4	1.4	51
Cl	19	1.2	Zn(CN) ₂ (0.6)	CH ₃ NO ₂ (80)	3	4	0.8	27
Br	4.1	23	AgCN (1.5)	CH ₃ NO ₂ (100)	---	1	2.5	44
Br	21	11	KCN (0.6)	CH ₃ NO ₂ (80)	3	3	1.3	48

I. Acetohalogenoglucose (X=halogen)

II. 2,6,8-Trichloropurine

III. 2,6,8-Trichloro-9-(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-purine

縮合する塩基としてはニトロメタンに溶解する広範囲の環状イミノ化合物（プリン、ピリミジン、ベンツイミダゾール等）に適応でき、またアシルハロゲノ糖としてはヘキソース、ペントース（グルコース、リボース、キシロース等）グルコ二糖類等大体全ての糖に応用することが出来た。

全般的に本合成法は Fischer-Helferich 法、Davoll 法その他のヌクレオシド合成法と比較して最も収量が良く、しかも核酸塩基の重金属塩を調製することなく直接核酸塩基とアシルハロゲノ糖とを縮合する優れた合成法と言える。

結 論

直接核酸塩基とアシルハロゲノ糖とを縮合させるために極性の溶媒を用いプリン、ピリミジンより広範囲の環状イミノ化合物とアシルハロゲノ糖とが直接極性溶媒中でハロゲン化水素受容体存在下に縮合されることを発見した。本縮合法は従来法の様に塩基類の重金属塩を調製することなくヌクレオシドを合成することが出来る特色を持っている。プリン、ピリミジン系化合物はもとよりベンツイミダゾール系化合物にも適応出来、また従来法より大変収量も優れ、結晶化もよいことが認められた。プリン系化合物では 6-ベンツアミドプリン（ N^6 -ベンゾイルアデニン）類、テオフィリン、ハロゲン化プリン類が高収量を示し、アデノシン系化合物にいたつては従来法の収量を二倍以上の 75% にも高める事が出来、またテオフィリンヌクレオシドでは縮合反応が定量的に進行することが認められた。ハロゲン化プリン類でも Fischer-Helferich 法やその変法より約 20% 収量を良くすることが出来た。

更に 2-アルキルチオ-4-クロル（またはメトキシ）-6-アミノピリミジン類は脱アミノ化して 6-ピリミドン類になる反応を発見し、助染料としての 2-メチルチオ-4, 6-ジクロルピリミジンの新合成法を確立した。また天然物中に存在する 1-メチルヒポキサンテンの新合成法も確立した。しかしこの化合物はヌクレオシド類合成の Fischer-Helferich 法の変法の検討のために合成したものであるが、ヌクレオシド合成には好ましい結果を示さなかつた。

審 査 結 果 の 要 旨

ヌクレオシド化合物は食品の分野では調味料としてイノシン酸、グアニル酸等があり、生理活性物質としてビタミン B₁₂ の構成成分、抗ウィルス性物質、抗菌性物質、抗癌剤等の多くの有用化合物が知られている。この様なヌクレオシド類は現在何れも天然資源に依存しており、化学合成は実用化されていない。

そこで著者は化学的に、容易でしかも収量良く合成する方法を検討する事を目的として行なつた。

ヌクレオシドは糖と核酸塩基から出来ているが、この両者を縮合させる方法として、Fischer-Helfferich法及びこれを改良した方法があるので、先ずこれらの方法を参考にして合成法を検討したが、いずれも収量が悪く、反応生成物も結晶状に得られなかつた。

種々検討して従来使用された無極性溶媒の代りに有極性溶媒中での反応を試みる事にし、ニトロアルカン類、シアノアルカン類、ピリジン等を選び縮合反応を行なわせたところ、ピリジン以外ではプリン、ピリミジンより広範囲の環状イミノ化合物とアシルハロゲン化物と直接ハロゲン化水素受容体存在下に縮合される事を見出した。

本縮合法は従来法の様に塩基類の重金属塩を調製することなく合成する事が出来、しかもプリン、ピリミジン系化合物はもとよりベンツイミダゾール系化合物にも適応出来、また従来法より収量も非常によく、結晶化もよいことが認められた。

プリン系化合物では6-ベンツアミドプリン類、テオフィリン、ハロゲン化プリン類が高収量で、アデノシン系化合物にいたつては従来法の二倍以上の75%にも高められた。

更に2-アルキル-4-クロル(またはメトキシ)-6-アミノピリミジン類は脱アミノ化して6-ピリミドン類になる反応を見出し、助染料としての2-メチルチオ-4,6-ジクロルピリミジンの新合成法又天然物中に存在する1-メチルヒポキサンチンの新合成法などを確立した。

以上これらの業績は従来何れも天然資源に依存していたヌクレオシド化合物の生産

に化学的合成法を実用化する途を開いたものであつて農学博士の学位を授与するに充分価値ある業績と認める。